مجله دنیای میکروب‌ها
سال ششم شماره سوم (پیاپی ۱۶) پاییز ۱۳۹۲
صفحات ۲۲۷-۲۱۹

Original Article

شیوع ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در *اسینتوباکتر بامانی* جدا شده از بیماران شهر تبریز

کتایون علی اکبر زاده[۱]، صفر فرج نیا*[۲]، اشرف کریمی نیک[۳]

[۱] کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات کرمان، گروه میکروب شناسی [۲] دانشیار، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، [۳] مربی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات کرمان، گروه میکروب شناسی

چکیده

سابقه و هدف: *اسینتوباکتر* یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی مقاوم به اغلب آنتی بیوتیک‌های متداول است که نقش مهمی در مرگ و میر بیماران بستری ایفا می نماید. آمینوگلیکوزیدها از داروهای اصلی مورد استفاده در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری می باشند. با این وجود مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها در این باکتری توسعه پیدا کرده است. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ژن‌های کد کننده آنزیم‌های تغییر دهنده آمینوگلیکوزیدها تیپ های *aphA6* و *aadB* در سویه‌های *اسینتوباکتر بامانی* جدا شده از بیماران بیمارستان امام رضا شهر تبریز انجام شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به صورت توصیفی – تحلیلی بر روی ۱۰۳ نمونه *اسینتوباکتر بامانی* جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان امام رضا تبریز انجام شد. شناسایی و تعیین هویت جدایه ها با استفاده از آزمون های افتراقی و بیوشیمیایی انجام گرفت. ارزیابی الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی به کانامایسین، جنتامایسین، آمیکاسین و توبرامایسین با استفاده از روش انتشار دیسک انجام شد. سپس به منظور ارزیابی حضور ژن‌های *aphA6* و *aadB* از روش PCR استفاده گردید.

یافته‌ها: از مجموع جدایه های مورد بررسی، ۵۲ مورد (۵۰/۴۸٪) ژن *aphA6* و ۱۶ مورد (۱۵/۵۳٪) ژن *aadB* را داشتند. همچنین بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کانامایسین (۹۴٪)، جنتامایسین (۸۶٪)، آمیکاسین(۸۱٪) و توبرامایسین (۶۳٪) بوده است.

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش شیوع قابل توجه ژن‌های کد کننده آنزیم‌های تغییر دهنده آمینوگلیکوزیدها در جدایه های *اسینتوباکتر بامانی* در منطقه مورد بررسی را نشان داد. از این رو ضرورت توجه بیشتر به منظور پایش گسترده مقاومت آنتی بیوتیکی و پیشگیری از انتشار ژن‌های مقاومت دارویی در این باکتری‌ها وجود دارد.

واژگان کلیدی: *اسینتوباکتر بامانی* ، مقاومت به آمینوگلیکوزیدها، *aphA6*، *aadB*

دریافت مقاله: مهر ماه ۹۱ پذیرش برای چاپ: بهمن ماه ۹۱

مقدمه

گروه آنزیمی آمینوگلیکوزید نوکلئوتیدیل ترانسفراز به ۵ گروه مختلف طبقه بندی شده اند. این آنزیم‌ها AMP حاصل از دفسفریلاسیون ATP را به ترتیب به گروه هیدروکسیل موقعیت ۲˝ – ۳˝ – ۴˝ – ۶–۹ در ساختار آمینوگلیکوزید انتقال می دهد (۷). این مطالعه با هدف ارزیابی فراوانی ژن های عامل مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در *اسینتوباکتر بامانی* جدا شده از بخش های مختلف بیمارستان امام رضا در شهر تبریز انجام شد. *اسینتوباکتر* (*Acinetobacter*) متعلق به گروه باکتری‌های گرم منفی، غیر تخمیری و هوازی اجباری است که به طور عمده در خاک، آب، فاضلاب و بر روی پوست انسان یافت می‌شود (۱).

* آدرس برای مکاتبه: تبریز، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز.
تلفن: ۰۹۱۴۳۰۱۸۵۸۹ پست الکترونیک: Farajnias@tbzmed.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

اسینتوباکتر بامانی (*Acinetobacter baumannii*) به عنوان یکی از مهم ترین عوامل ایجاد کننده عفونت بیمارستانی و باکتریمی در نقاط مختلف دنیا شناخته شده است. عفونت‌های بیمارستانی نه تنها موجب بروز آسیب جدی به بیماران می‌گردند بلکه موجب افزایش هزینه‌های بیمارستانی نیز می گردند (۲). امروزه به دلیل مصرف بی‌رویه و غیرضروری آنتی بیوتیک‌ها اغلب عوامل بیماری زای موثر در عفونت‌های بیمارستانی، در برابر آنتی بیوتیک‌ها و سایر مواد ضد میکروبی مقاومت قابل توجهی پیدا کرده‌اند. مطالعات نشان داده است که *اسینتوباکتر بامانی* مقاومت طبیعی نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام، آمینوگلیکوزیدها، کارباپنم‌ها و فلوروکینولون‌ها دارد (۳).

این باکتری هم چنین به دلیل توانایی بالا در کسب ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی و ایجاد سویه های مقاوم به چند دارو (Multi-Drug-Resistant = MDR) درمان این نوع عفونت‌ها را مشکل، پرهزینه و گاه غیر ممکن نموده است (۴ و ۵). به همین دلیل در طول سه دهه گذشته جایگاه این باکتری از یک ارگانیسم بیماری‌زای مشکوک به یک عامل عفونی مهم در بیمارستان ها در سرتاسر جهان تغییر یافته است.

آمینوگلیکوزیدها از داروهای اصلی در درمان عفونت های *اسینتوباکتر* به شمار می آیند. اما در سال های اخیر مقاومت به این آنتی بیوتیک ها نیز در این باکتری افزایش یافته است (۶). مکانیسم‌های مقاومت می تواند از طریق روش های مختلفی صورت گیرد. دو مکانیسم اصلی ایجاد مقاومت در مقابل آمینوگلیکوزیدها، یکی از طریق تغییر در ساختار ریبوزوم که در اثر موتاسیون در پروتئین ساختاری ریبوزوم، rRNA و یا به صورت آنزیمی حاصل می شود. این چنین مقاومتی در استرپتومایسین وجود دارد. دوم، تغییر در ساختار آنتی بیوتیک به روش آنزیمی که این مقاومت ناشی از حضور ژن هایی در باکتری است که آنزیم های تغییر دهنده آمینوگلیکوزید (Aminoglycoside Modifying Enzymes = AMEs) را کد می‌کنند (۷ و ۸). تغییر آنزیمی به مراتب مهم تر از مکانیسم های دیگر می باشد. خانواده AMEs بر اساس نوع فعالیت آنزیمی به سه گروه اصلی آمینوگلیکوزید فسفو ترانسفراز APH، آمینو گلیکوزید استیل ترانسفراز AAC و آمینوگلیکوزید نوکلئوتیدیل ترانسفراز AAD یا ANT طبقه بندی شده است (۷). همچنین آمینوگلیکوزید فسفوترانسفراز گروه هیدروکسیل موجود در ساختار آمینوگلیکوزیدها را با کمک ATP فسفریله می کند. تا کنون هفت گروه مختلف از این آنزیم ها شناسایی شده اند. بزرگترین گروه آنزیمی این خانواده Aph (۳′) –I است که گروه هیدروکسیل آنتی‌بیوتیک را در موقعیت ۳′ فسفریله می‌کند. از این خانواده شیوع ژن *aphA6* در *اسینتوباکتر* گسترده تر است و عامل مقاومت به جنتامایسین، آمیکاسین، کانامایسین، پاروموماسین و نئومایسین می باشد (۶).

گروه آنزیمی آمینوگلیکوزید نوکلئوتیدیل ترانسفراز به ۵ گروه مختلف طبقه بندی شده اند. این آنزیم‌ها AMP حاصل از دفسفریلاسیون ATP را به ترتیب به گروه هیدروکسیل موقعیت ۲′ – ۳′ – ۴′ – ۶ – ۹ در ساختار آمینوگلیکوزید انتقال می دهد (۷). این مطالعه با هدف ارزیابی فراوانی ژن های عامل مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در *اسینتوباکتر بامانی* جدا شده از بخش های مختلف بیمارستان امام رضا در شهر تبریز انجام شد.

مواد و روش ها

الف) نمونه‌های مورد بررسی: این مطالعه به صورت توصیفی- تحلیلی بر روی ۱۰۳ سویه *اسینتوباکتر بامانی* جداسازی شده از نمونه‌های بالینی شامل تراشه، خلط، ادرار، خون، کشت زخم، مایع آسیت، مایع جنب، کاتتر و مایع نخاع از بخش‌های مختلف بیمارستان امام رضا شهر تبریز انجام شد.

ب) شناسایی جدایه ها: به منظور جداسازی اولیه باکتری‌ها، نمونه ها پس از انتقال به آزمایشگاه بر روی محیط مک کانکی آگار و بلاد آگار (Merck) کشت و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت گرم خانه گذاری شدند. در صورت مشاهده رشد و پس از رنگ آمیزی، کوکسی‌ها و دیپلوکوکسی‌های گرم منفی با تست اکسیداز بررسی شدند. در مرحله بعد نمونه‌های اکسیداز منفی با استفاده از آزمون های بیوشیمیایی، مانند حرکت، رشد در دمای ۴۴-۴۲ درجه

Archive of SID

www.SID.ir

سانتی گراد، تست سیترات و کشت بر روی محیط OF حاوی قند گلوکز بررسی و تعیین هویت مقدماتی صورت گرفت (۹). به منظور تایید جدایه های احتمالی *استینتوباکتر*، ازدیاد ژن *blaOXA-51-like* با روش PCR مطابق با روش تورتون (Turton) و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام گردید (۱۰).

ج) *حساسیت ضد میکروبی:* حساسیت آنتی بیوتیکی *استینتوباکتر* با روش انتشار دیسک طبق توصیه مؤسسهٔ استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) (۱۱) نسبت به ۴ آنتی بیوتیک آمینوگلیکوزیدی شامل کانامایسین (۳۰µg)، توبرامایسین (۱۰µg)، آمیکاسین (۳۰µg) و جنتامیسین (۱۰µg) (شرکت Mast و پادتن طب) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش گردید.

د) *استخراج DNA:* ابتدا جدایه‌ها در محیط لوریا برتانی مایع برای یک شب کشت داده شدند. پس از سانتریفوژ، باکتری‌ها در بافر لیز کننده حاوی SDS-Protinas K حل و به مدت ۳ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد گرما گذاری شدند. در ادامه هم حجم سوسپانسیون مذکور به ترکیب فنل-کلروفرم (۱:۱) اضافه و پس از مخلوط شدن به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۱۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید.

مایع روماند به لوله اپندرف جدید منتقل و DNA موجود در نمونه با استفاده از ایزوپروپانل رسوب داده شد. در نهایت پس از شستشو با الکل ۷۰ درصد و خشک شدن، در آب مقطر حل گردید (۱۲).

ه) *واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR):* در این مطالعه به منظور تکثیر ژن‌های *aphA6* و *aadB* از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) (۱۳) و روش PCR استفاده گردید. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۲۲ میکرولیتر از Master mix (شامل PCR Buffer 10X، dNTP، $MgCl_2$، آب دوبار تقطیر)، Taq DNA Polymerase (۰/۲ µl)، هر یک از پرایمرها (۱ µl) و DNA الگو (۱ µl) انجام شد.

در ادامه واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Mastercycler Gradient, Eppendorf, Germany) با شرایط دمایی ۳ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. محصول نهایی PCR در ژل آگارز ۱ درصد مورد الکتروفورز قرار گرفت. پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید با استفاده از اشعه UV مورد بررسی قرار گرفت (۱۳).

یافته ها

با استفاده از آزمون های استاندارد بیوشیمیایی و روش مولکولی شناسایی *استینتوباکتر بامانی* در تمامی ۱۰۳ جدایه احتمالی تایید گردید. در بین بیماران مورد مطالعه ۷۴ نفر (۷۱/۸۴٪) مرد و ۲۹ نفر (۲۸/۱۶٪) زن بودند. حداقل سن بیماران، ۱۴ سال و حداکثر ۸۶ سال بود. از نظر گروه‌های سنی بیماران، ۲۶ نفر در گروه سنی ۳۹ – ۲۰ سال، ۴۰ نفر در گروه ۵۹–۴۰ سال، ۳۴ نفر در گروه ۹۰–۶۰ سال و سه نفر در گروه کمتر از ۲۰ سال قرار داشتند. از نظر بخش بستری، ICU مغز با ۱۷٪ و اورولوژی و اورژانس عفونی با ۱٪ به ترتیب بیشترین و کمترین میزان

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در تکثیر ژن‌های *aphA6* و *aadB*

پرایمر	توالی (۳' → ۵')	اندازه باند	دمای اتصال
aphA6 F **aphA6 R**	ATGGAATTGCCCAATATTATTC TCAATTCAATTCATCAAGTTTTA	۷۹۷ bp	۵۵
aadB F **aadB R**	ATGGACACAACGCAGGTCGC TTAGGCCGCATATCGCGACC	۵۳۴ bp	۵۵

Archive of SID
www.SID.ir

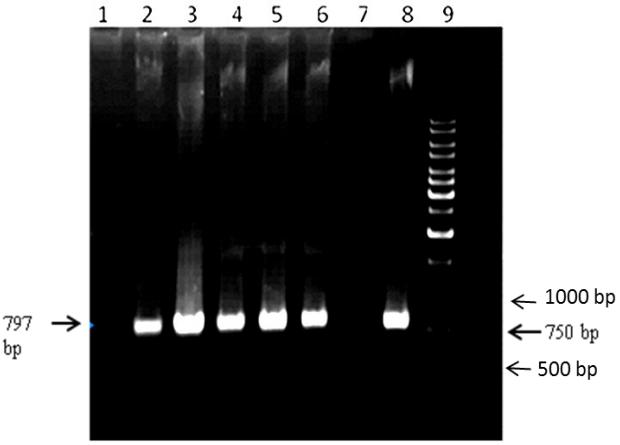
جدول ۲ : فراوانی جدایه های *استیتوباکتر* در بخش های مختلف بیمارستان

بخش	تعداد	درصد
ICU مغز	۱۸	٪۱۷/۴۷
تروما	۱۶	٪۱۵/۵۳
اعصاب	۱۱	٪۱۰/۶۷
عفونی	۱۰	٪۹/۷۰
ICU ریه	۹	٪۸/۷۳
ICU اعصاب	۸	٪۷/۷۶
داخلی کلیه	۸	٪۷/۷۶
ICU جراحی	۵	٪۴/۸۵
داخلی گوارش	۳	٪۲/۹۱
داخلی ریه	۳	٪۲/۹۱
جراحی عمومی وجراحی	۲	٪۱/۹۴
غددوروماتولوژی	۲	٪۱/۹۴
داخلی عمومی	۲	٪۱/۹۴
جراحی مغز	۲	٪۱/۹۴
ICU	۲	٪۱/۹۴
اورولوژی	۱	٪۰/۹۷
اورژانس عفونی	۱	٪۰/۹۷
جمع	۱۰۳	٪۱۰۰

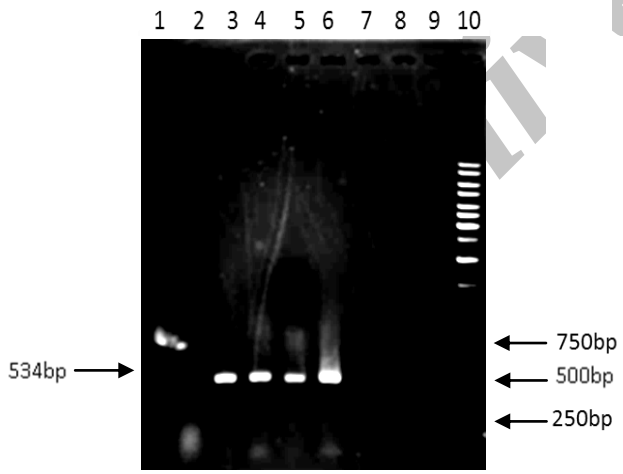
جدول ۳: فراوانی جدایه های *استیتوباکتر* بر حسب نوع نمونه بالینی

نوع نمونه	تعداد	درصد
تراشه	۳۸	٪۳۶/۸۹
ادرار	۲۲	٪۲۱/۳۵
خلط	۱۰	٪۹/۷۰
خون	۷	٪۶/۷۹
کاتتر	۶	٪۵/۸۲
شستوی برونش	۶	٪۵/۸۲
کشت زخم	۵	٪۴/۸۵
نمونه آبسه	۳	٪۲/۹۱
مایع پلور	۲	٪۱/۹
مایع آسیت	۲	٪۱/۹
مایع نخاع	۲	٪۱/۹
جمع	۱۰۳	٪۱۰۰

جداسازی *استیتوباکتر بامانی* را داشتند (جدول ۲). در این مطالعه بیشترین فراوانی جدایه های *استیتوباکتر* در نمونه تراشه (٪۳۶/۸۹) و ادرار (٪۲۱/۳۵) مشاهده گردید (جدول ۳).



شکل ۱: الکتروفورز محصول PCR حاصل از تکثیر ژن *aphA6* (۷۹۷ جفت باز). ستون های ۲ تا ۶ و ۸) نمونه های مثبت، ستون های ۱ و۷) نمونه های منفی، ستون ۹) سایز مارکر 1kb .



شکل ۲: الکتروفورز محصول PCR حاصل از تکثیر ژن *aadB* (۵۳۴ جفت باز). ستون های ۳ تا ۶) نمونه های مثبت، ستون های ۱، ۲، ۷ و ۸) نمونه های منفی، ستون ۹) کنترل منفی، ستون ۱۰) سایز مارکر 1kb.

ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها نشان داد که بیشترین میزان مقاومت به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کانامایسین (٪۹۴)، جنتامایسین (٪۸۶)، آمیکاسین(٪۸۱) و توبرامایسین (٪۶۳) بوده است.

Archive of SID

www.SID.ir

ژن *aphA6* در ۵۲ مورد (۵۰/۴۸٪) و ژن *aadB* در ۱۶ مورد (۱۵/۵۳) از جدایه ها شناسایی گردید. همچنین ۱۰ سویه (۷/۸۷٪) نیز دارای هر دو ژن بودند اما ۲۱ سویه (۲۰/۴٪) هیچ یک از ژن ها را نداشتند (شکل های ۱ و ۲).

بحث

در این مطالعه الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و شیوع ژن های کد کننده مقاومت آمینوگلیکوزیدی نوع *aphA6* و *aadB* در جدایه های *استیتوباکتر بامانی* جدا شده از بیماران شهر تبریز با روش های فنوتیپی و PCR مورد بررسی قرار گرفت. شناسایی این ژن ها می تواند به شناسایی الگوی مقاومتی این باکتری و همچنین آنتی بیوتیک‌های موثر در درمان عفونت های ناشی از این باکتری کمک نماید. امروزه *استیتوباکتر بامانی* از عوامل شایع و مهم عفونت‌های بیمارستانی به شمار می رود. این باکتری به دلیل مقاومت ذاتی، می تواند مدت زمان زیادی در محیط بیمارستان زنده بماند (۱۴).

درمان عفونت های ناشی از *استیتوباکتر بامانی* به دلیل پیدایش سویه‌هایی با مقاومت چندگانه و انتشار سریع آن در محیط بیمارستان بسیار مشکل است. به طوری که در حال حاضر این باکتری به عنوان یکی از عوامل مداخله گر در مرگ و میر بیماران بستری در بخش‌های بیمارستان، به ویژه بخش مراقبت های ویژه محسوب شده و از نگرانی‌های عمده جامعه پزشکی محسوب می‌شود (۱۵). مطالعات اخیر نشان داده است که مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *استیتوباکتر بامانی* در حال افزایش می باشد. به طوری که اثبات شده است که این باکتری به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌های در دسترس مقاومت نشان می دهد (۱۶). نتایج پژوهش حاضر، مقاومت قابل توجه سویه های *استیتوباکتر بامانی* به آنتی‌بیوتیک‌های کانامایسین (۹۴٪)، جنتامایسین (۸۶٪)، آمیکاسین (۸۱٪) و توبرامایسین (۶۳٪) را نشان می دهد. این یافته ها نشانگر افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به مطالعات قبلی می باشد. در مطالعه ای که منیری (Moniri) و همکاران در مورد الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در گونه‌های *استیتوباکتر* جدا شده از بیمارستان شهید بهشتی کاشان انجام دادند، بیشترین میزان مقاومت دارویی نسبت به آمیکاسین (۸۰٪) و توبرامایسین (۶۸/۳٪) گزارش شد. این یافته با نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر هم خوانی دارد (۱۳). همچنین در مطالعه ای که توسط حسینی (Hosseini) و همکاران در سال ۱۳۸۸ در دانشگاه علوم پزشکی ارومیه انجام شد، میزان مقاومت گونه‌های *استیتوباکتر* به آمیکاسین ۵۲ درصد، جنتامایسین ۷۰/۸ درصد و کانامایسین ۹۵/۸ درصد گزارش گردید (۱۷). بنابراین میزان مقاومت گزارش شده نسبت به آنتی‌بیوتیک آمیکاسین در مطالعه آنها نسبت به مطالعه حاضر کمتر می باشد.

در مطالعه ای که علایی و همکاران در سال ۱۳۹۲ در بیمارستان نمازی شیراز انجام دادند، تمامی سویه های *استیتوباکتر بامانی* جداسازی شده از بخش های مختلف بیمارستان به آنتی بیوتیک های سفوتاکسیم، کانامایسین و آموکسی سیلین/کلاولانیک اسید مقاوم بودند (۱۸). این یافته از نظر مقاومت بالای جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک کانامایسین با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی دارد.

آنالیز مولکولی نشان داد که میزان فراوانی ژن های *aphA6* و *aadB* به ترتیب ۵۰/۴۸ و ۱۵/۵۳ درصد بوده است. ژن *aphA6* فسفوترانسفرازی را کد می نماید که عامل مقاومت به آنتی بیوتیک های جنتامایسین، آمیکاسین، کانامایسین و نئومایسین می باشد. در این مطالعه ۶۴/۱۹ درصد از سویه‌های واجد ژن *aphA6*، نسبت به آمیکاسین و ۶۰/۴۶ درصد نسبت به جنتامایسین مقاومت داشتند.

ژن *aadB*، آدنیل ترانسفرازی را کد می کند که عامل مقاومت به آنتی بیوتیک های جنتامایسین، توبرامایسین و کانامایسین می باشد. میزان مقاومت به آمیکاسین و جنتامایسین در سویه‌های دارای ژن *aadB*، به ترتیب ۱۹/۷۵ و ۱۸/۶ درصد بود. در مطالعات منیری (Moniri) و همکاران ۸۲/۱ درصد از سویه‌های دارای ژن *aphA6*، نسبت به آمیکاسین مقاومت نشان دادند (۱۳). این یافته از نظر فراوانی بیشتر از نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر می باشد. همچنین در مطالعه یاد شده در مورد انتشار ژن های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در گونه‌های

Archive of SID

www.SID.ir

اسینتوباکتر، میزان شناسایی ژن های *aphA6* و *aadB* به ترتیب ۶۵ و ۳/۳ درصد بود. اما در پژوهش حاضر، میزان این ژن‌ها به ترتیب ۵۰/۴۸ و ۱۵/۵۳ درصد گزارش گردید.

فراوانی بالای ژن *aphA6* با اطلاعات قبلی منتشر شده از سایر نمونه‌های بالینی گونه‌های *اسینتوباکتر* مطابقت دارد. اما میزان فراوانی ژن *aadB* در مطالعه حاضر بیشتر بود.

آکرز (Akers) و همکاران در سال ۲۰۱۰ از روش PCR به منظور شناسایی ژن های دخیل در مقاومت آمینوگلیکوزیدی در *اسینتوباکتر بامانی* و *اسینتوباکتر کالکواستیکوس* استفاده نمودند. نتایج آنها نشان داد که ۵۶/۱٪ سویه ها دارای هر دو ژن *aphA6* و *aadB* بودند. اما در مطالعه حاضر ۷/۸۷٪ درصد جدایه ها هر دو ژن را داشتند. همچنین در مطالعه آنها مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین ۹۶/۶٪، توبرامایسین ۷۷/۵٪ و آمیکاسین ۵۷/۱٪ گزارش شد. که میزان مقاومت نسبت به جنتامایسین و توبرامایسین بیشتر از نتایج مطالعه حاضر می باشد (۱۹).

در مطالعه ای که لی (Lee) و همکاران در سال ۲۰۱۱ در کره انجام دادند، بیشترین میزان فراوانی در مورد ژن های *aphA6* (۷۱٪)، *aacC1* (۵۶٪) و *aadB* (۴۸٪) گزارش گردید. این یافته از نظر فراوانی بیشتر از میزان گزارش شده در پژوهش حاضر می باشد (۲۰).

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که میزان مقاومت به آمینوگلیکوزیدهایی مانند آمیکاسین و کانامایسین رو به افزایش است. همچنین بررسی حاضر شیوع بالای ژن های مقاومت آمینوگلیکوزیدی *aphA6* و *aadB* در *اسینتوباکتر بامانی* جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان مورد بررسی را نشان داد. این شیوع بالا در نتیجه تجویز غیر ضروری آنتی‌بیوتیک‌ها و عدم بهره گیری از ابزارهای مناسب کنترل عفونت می باشد. این موضوع اهمیت شناسایی این دسته از ژن‌های مقاوت آنتی‌بیوتیکی را دو چندان کرده است. هم چنین انتخاب آنتی بیوتیک مناسب بر اساس آنتی بیوگرام نقش مهمی در درمان و گسترش مقاومت خواهد داشت.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاون پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به دلیل حمایت های ارایه شده در انجام این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH. Manual of clinical microbiology. 7th ed. Washington D.C.1999; pp: 517- 525.
2. Dinc U, Bayramoglu G, Buruk K, Ulusoy H, Tosun I, Kaklikkaya N. Molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii & Acinetobacter calcoaceticus* complex isolated from clinical specimens at an intensive care unit. Saudi Med J. 2010; 31: 453-455.
3. Huang LY, Chen TL, Lu PL, Tsai CA, Cho WL, Chang FY, Fung CP, Siu LK. Dissemination of multidrug-resistant, class 1 integron-carrying *Acinetobacter baumannii* isolates in Taiwan. Clin Microbiol Infect. 2008; 14: 1010-1019.
4. Song W, Lee KM, Kang HJ, Shin DH and Kim DK. Microbiological aspects of predominant bacteria isolated from the burn patients in Korea. Burns. 2001; 27: 136-139.
5. Taylor GD, Kibsey P, Kirkland T, Burroughs E, Tredget E. Predominance of staphylococcal organisms in infections occurring in a burns intensive care unit. Burns.1992; 18: 332-335.

Archive of SID

www.SID.ir

6. Nemec A, Dolzani L, Brisse S, Van den Broek P, Dijkshoorn L. Diversity of aminoglycoside resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European *Acinetobacter baumannii* clones. J Med Microbiol. 2004; 53(12): 1233-1240.

7. Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. Microbiol Rev.1993; 57(1): 138-163.

8. Miller GH, Sabatelli FJ, Naples L, Hare RS, Shaw KJ. The most frequently occurring aminoglycoside resistance mechanisms-combined results of surveys in eight regions of the world. The Aminoglycoside Resistance Study Groups. J Chemother. 7 (Suppl. 2) 1995: 17-30.

9. Feizabadi MM, Fathollahzadeh B, Taherikalani M, Rasoolinejad M, Sadeghifard N, Aligholi M, Soroush S, Mohammadi Yegane S. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of bla_{OXA} genes among *Acinetobacter* spp. isolated from patients at Tehran hospitals. Jpn J Infect Dis. 2008; 61:274-278.

10. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the bla_{OXA-51}-like carbapenemase gene intrinsic to this species. J Clin Microbiol. 2006; 44: 2974-2976.

11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. M100S222012. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012.

12. Yousefi S, Farajnia S, Nahaei MR, Akhi MT, Ghotaslou R, Soroush MH, Naghili B, Jazani NH. Detection of metallo- β- lactamase- encoding genes among clinical isolates of *P. aeruginosa* in northwest of Iran. Diagn Microbiol Infect Dis. 2010; 68(3): 322-325.

13. Moniri R, Kheltabadi Farahani R, Shajari Gh, Nazem Shirazi MH, Ghasemi A. Molecular epidemiology of aminoglycosides resistance in *Acinetobacter* spp. with emergence of multidrug- resistant strains. Iran J Public Health. 2010; 39: 63-68.

14. Szabo D, Szentandrassy J, Juhasz Z, Katona K, Nagy K, Rokusz L. Imported PER-1 producing *Pseudomonas aeruginosa*, PER-1 producing *Acinetobacter baumannii* and VIM-2 producing *P. aeruginosa* strains in Hungary. Clin Microbiol Antimicrob. 2008; 7: 12.

15. Jeon BC, Jeong SH, Bae IK, Kwon SB, Lee K, Young D, Lee JH, Song JS, Lee SH. Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the *OXA-23* beta-lactamase in Korea. J Clin Microbiol2005; 43: 2241-2245.

16. Ruiz M, Marti S, Fernandez-Cuenca F, Pascual A, Vila J. High prevalence of carbapenem hydrolysing oxacillinases in epidemiologically related and unrelated *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Spain. Clin Microbiol Infect. 2007; 13: 1192-1198.

17. Hosseini JN, Babazadeh H, Khalkhali HR. An assessment of the sensivity of *Acinetobacter* spp. Burn isolates to ciprofloxacin and some other antibiotics used for treatment. J Jahrom Uni Med Sci. 2009; 7(2): 1-11. [In Persian]

Archive of SID

www.SID.ir

18. Alaee N, Bahador A, Harzandi N. Molecular epidemiology & antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* isolates from Namazi Hospital, in Shiraz by modified AFLP analysis method. J Microb Word. 2012; 6(2): 91-104. [In Persian]

19. Akers k, Chaney C, Barsoumian A, Beckius M, Zera W, Yu X, Guymon C, Keen III EF, Robinson BJ, Mende K, Murray CK. Aminoglycoside resistance and susceptibility testing errors in *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* Complex. Clin Microbiol. 2010; 48(4): 1132-1138.

20. Lee K, Yong D, Jeong SH, Chong Y. Multidrug- resistant *Acinetobacter* spp. increasingly problematic nosocomial pathogens. Yonsei Med J. 2011; 52(6): 879-891.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Microbial World
Volume 6, No. 3, October 2013

Original Article

Prevalence of aminoglycoside resistance genes in *Acinetobacter baumannii* isolates from patients in Tabriz city

Katayun Aliakbarzade[1], Safar Farajnia[2], Ashraf Kariminik[3]

[1] MS.c., Department of Microbiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University of Kerman, Iran.
[2] Associate Professor, Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
[3] Lecturer, Department of Microbiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University of Kerman, Iran.

Archive of SID

Abstract

Background and Objectives: *Acinetobacter baumannii* is one of the major causes of nosocomial infections resistant to most of available antibiotics, which is known as an important reason of nosocomial death. Although the aminoglycosides are still used as drugs of choice for treatment of *Acinetobacter* infections, resistance to aminoglycosides has been increasing in this bacterium. The present study investigated the prevalence of the encoding genes of aminoglycoside modifying enzymes, *aphA6* and *aadB*, in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients in Emam Reza hospital, in Tabriz city.

Material & methods: This cross- sectional study was carried out on 103 *Acinetobacter baumannii* isolated from hospitalized patient in Imam Reza hospital located at Tabriz. Identification of the strains was performed based on differential and biochemical tests. Antimicrobial susceptibility patterns of the isolates to different aminoglycoside antibiotics including gentamicin, amikacin, tobramycin and kanamycin were evaluated by disc diffusion method. Then the PCR technique used to evaluate the presence of *aphA6* and *aadB* genes.

Results: A total of studied isolates, 52 (50.48%) and 16 (15.53%) cases were positive for *aphA6* and *aadB* genes, respectively. Also, the highest resistance was recorded for kanamycin (94%), gentamicin (86%), amikacin (81%) and tobramycin (63%) antibiotics.

Conclusion: The results of this study showed the remarkable prevalence of the encoding genes of aminoglycoside modifying enzymes in the *A. baumannii* isolates. Therefore, a widespread surveillance of resistance to antibiotics and prevention of distribution of these antibiotic-resistant genes is necessary.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, Aminoglycoside resistance, *aphA6*, *aadB*.

Correspondence to: Safar Farajnia

Tel: +989143018589

E-mail: Farajnias@tbzmed.ac.ir

Journal of Microbial World 2013, 6(3): 219-227.

www.SID.ir